



Aktivitas Antiparkinson Ekstrak dan Fraksi Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley

*Antiparkinson Activity of Cubeb (*Piper cubeba* L.) Fruit's Extract and Fraction on Sprague Dawley Rats*

Kiki Damayanti*, Yance Anas, Windy Marlina, Talcha Nabila, Putri Irmawati

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia

*E-mail: k.damayanti.s@gmail.com

Abstrak

Salah satu patofisiologi terjadinya penyakit parkinson adalah stres oksidatif. Stres oksidatif dapat diatasi dengan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam, diantaranya buah kemukus (*Piper cubeba* L.). Metabolit sekunder yang diduga bersifat antioksidan adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan flavonoid dan menguji aktivitas antiparkinson ekstrak etanol buah kemukus (EEBK), fraksi etil asetat ekstrak etanol buah kemukus (FEAEEBK), dan fraksi n-heksan ekstrak etanol buah kemukus (FNHEEBK) yang diperoleh secara fraksinasi bertingkat. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Tikus sebanyak 84 ekor dibagi menjadi 14 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok normal tanpa induksi haloperidol yang diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Kelompok 2 dan 3 merupakan kontrol negatif yang berturut-turut diberi akuades dan minyak zaitun. Dua kelompok kontrol positif, yaitu kelompok 4 dan 5 berturut-turut diberi levodopa 27 mg/kgBB dan vitamin E 180 IU/kgBB. Kelompok 6 sampai 14 diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK masing-masing dengan dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB. Kelompok 2 hingga 14 diinduksi dengan haloperidol 2 mg/kgBB secara intraperitoneal 45 menit setelah pemberian bahan uji. Semua kelompok diuji ketahanannya berjalan di atas rotarod pada hari ke 0, 4, 7, 11, 14. Kurva dibuat berdasarkan data waktu bertahan tikus di atas rotarod terhadap waktu, lalu dihitung AUC₀₋₁₄-nya dengan metode trapezoid. Data AUC₀₋₁₄ dianalisis statistik Mann Whitney 95%CI. Keberadaan flavonoid dalam bahan uji dianalisis dengan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK mengandung flavonoid, serta EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK mempunyai aktivitas antiparkinson, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB.

Abstract

Pathophysiologies underlying the Parkinson's disease is oxidative stress, can be treat with antioxidants from natural sources, including Piper cubeba L. Flavonoids are reported as antioxidants. This study aimed to analyse the flavonoids content and antiparkinson activity from the ethanolic extract of cubeb fruits (EECF), ethyl acetate fraction of ethanolic extract of cubeb fruits (EAFEECF), n-hexane fraction of ethanolic extract of cubeb fruits (NHFEECF). This research is an experimental study with a post test only control group design. Eighty four rats were divided into 14 groups. Group 1 is a normal group, group 2-3 are negative controls which were given aquadest and olive oil, respectively. Positive control groups, 4 and 5 were given levodopa 27 mg/kgBW and vitamin E 180 IU/kgBW, respectively. Group 6-14 were given EECF, EAFEECF, and NHFEECF at doses 150, 300, 600 mg/kgBW. Group 2-14 were induced with haloperidol 2 mg/kgBW intraperitoneally 45 minutes after administration of the material tests. The materials are given once a day for 7 days. The length of time the rats can hold on to the rotarod was tested on days 0, 4, 7, 11, 14. The curve showed the data on the survival time of rats on a rotarod versus time, then the AUC₀₋₁₄ was calculated using the trapezoidal method. The AUC₀₋₁₄ were analyzed using Mann Whitney test at 95%CI. The flavonoids content were analysed using TLC. The results showed that the EECF, EAFEECF, and NHFEECF contained flavonoids, and antiparkinson activity except for the NHFEECF at doses 150 and 600 mg/kgBW.

Kata kunci:

Ekstrak etanol buah kemukus (*Piper cubeba* L.); Fraksi etil asetat; Fraksi n-heksan; Antiparkinson; Flavonoid

Keywords:

Ethanolic extract of cubeb fruits (*Piper cubeba* L.); Ethyl acetate fraction; n-Hexane fraction; Antiparkinson; Flavonoid

Received:

04-05-2022

Revised:

05-07-2022

Accepted:

09-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):90-98

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5964>

PENDAHULUAN

Penyakit Parkinson merupakan penyakit neurodegeneratif yang mengakibatkan munculnya gejala seperti kekakuan, tremor, bradikinesia, kesulitan berjalan, dan ketidakseimbangan.¹ Salah satu mekanisme patologi yang sangat penting dalam penyakit Parkinson adalah disfungsi mitokondria.² Disfungsi mitokondria merupakan gangguan akibat stres oksidatif dan neuroinflamasi.³ Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan, yaitu jumlah *reactive oxygen and nitrogen species* (RONS) sangat tinggi, sehingga tidak dapat tertangani oleh antioksidan endogen seperti *manganase superoxide dismutase* dan *glutathion*.⁴ Disfungsi mitokondria yang disebabkan oleh RONS dapat mempercepat kerusakan serta kematian sel dopaminergik.⁵ Terapi menggunakan senyawa yang dapat memperbaiki fungsi mitokondria atau senyawa yang mampu meningkatkan kemampuan antioksidan endogen dapat bermanfaat untuk penyakit neurodegeneratif.⁶

Hingga saat ini belum ada terapi yang bersifat menyembuhkan penyakit Parkinson.⁷ Terapi penyakit Parkinson yang dilakukan diharapkan dapat memperlambat progresivitas penyakit.⁸ Tujuan dilakukannya terapi pada penyakit Parkinson adalah memperbaiki gejala motorik dan non motorik, sehingga pasien dapat mempertahankan kualitas hidupnya.⁹ Selama ini, levodopa merupakan obat yang paling sering digunakan dalam terapi penyakit Parkinson.¹⁰ Levodopa merupakan prekursor dopamin yang efektif dalam mengontrol gejala dan menghambat progresivitas penyakit Parkinson.¹¹

Tanaman merupakan sumber antioksidan alami. Metabolit sekunder berupa flavonoid dapat beraktivitas sebagai antioksidan, sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengobati penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas seperti kanker, diabetes, dan penyakit neurodegeneratif.¹² Penelitian Jung dan Kim¹³ menyatakan flavonoid berpotensi memperbaiki dan

mencegah penyakit Parkinson dengan mengendalikan beberapa respon fisiologis yang berkaitan dengan efek neuroprotektif seperti peningkatan antioksidan.

Tanaman kemukus (*Piper cubeba* L.) merupakan tanaman yang telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Indonesia, khususnya di pulau Jawa.¹⁴ Ekstrak buah kemukus juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas ini diduga berhubungan dengan kandungan polifenolnya.¹⁵ Khalaf dkk.,¹⁶ melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan buah kemukus. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kemukus memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai *inhibition concentration* 50 (IC₅₀) yang mendekati asam askorbat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkonfirmasi keberadaan flavonoid dan membuktikan aktivitas EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK sebagai antiparkinson pada tikus galur Sprague Dawley.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, corong pisah (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph), bejana Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Camag), lampu UV 254 dan 365 nm (Camag), rotarod (PT. Alfa Mas Sakti), dan alat-alat gelas.

Tanaman yang digunakan adalah buah kemukus yang diperoleh dari petani kemukus di desa Kemejing, kecamatan Loano, kabupaten Purworejo. Tanaman kemukus yang digunakan telah dideterminasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan. Kebenaran tanaman kemukus yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan dengan dikeluarkannya surat keterangan bernomor 01410968/S.Tb/XI/2021.

Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi dan fraksinasi adalah etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan. Semua pelarut yang digunakan merupakan pelarut berkualitas teknis yang diperoleh dari PT.

Multi Kimia Raya. Fase gerak untuk KLT berupa campuran etil asetat (Merck), asam formiat (Merck), dan akuabidestilata (PT. Ikapharmindo Putramas). Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ (Merck). Uap amonia digunakan sebagai penampak bercak (Merck). Kuersetin (PT. Sigma-Aldrich) merupakan pembanding flavonoid pada pengujian menggunakan KLT.

Tikus putih jantan galur Sprague Dawley diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada. Tikus yang digunakan berumur 2–3 bulan dengan berat badan 200–250 gr. Tikus tersebut telah dikonfirmasi kebenarannya melalui proses determinasi oleh Laboratorium Sistematis Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (surat keterangan nomor BI/SH/35/X/2021). Prosedur pelaksanaan pengujian telah memenuhi persyaratan etik penggunaan hewan uji oleh komisi bioetik Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang (*Ethical Clearance* No 155/V/2021/Komisi Bioetik).

Bahan yang digunakan untuk pengujian antiparkinson adalah haloperidol (Lodomer[®] injeksi dari PT. Roche), CMC-Na dan gom arab (PT. Brataco), levodopa (Madopar[®] dispersible tablet dari PT. Roche), vitamin E (Natur-E[®] dari PT. Darya-Varia), minyak zaitun (PT. Rafael Salgado), NaCl 0,9% (PT. Widatra Bhakti), dan akuades.

Pembuatan EEDP, FEAEEDP, dan FNHEEDP

Buah kemukus dikeringkan dengan oven pada suhu 55°C hingga kadar airnya kurang dari 10%. Simplisia buah kemukus selanjutnya diserbuk. Serbuk simplisia buah kemukus dibuat ekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan etil asetat dan n-heksan. Fase etil asetat dan n-heksan yang didapat

diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55°C.

Uji kualitatif flavonoid

Keberadaan flavonoid dikonfirmasi melalui KLT. Fase gerak berupa campuran etil asetat, asam formiat, dan air dengan perbandingan 10:2:3 disiapkan sebanyak 22,5 ml, dimasukkan dalam bejana, lalu dilakukan penjenuhan. Ketiga bahan uji yaitu EEBK, FEAEEBK, FNHEEBK masing-masing sebanyak 0,5 g dilarutkan ke dalam 2 mL etanol, lalu ditotolkan pada plat silika gel 60 F₂₅₄. Kuersetin dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada plat silika gel 60 F₂₅₄. Plat yang sudah ditotol kemudian dielusi dalam bejana yang telah jenuh dengan fase gerak. Setelah fase gerak sudah mencapai batas elusi, plat silika gel 60 F₂₅₄ dikeringkan. Plat silika gel 60 F₂₅₄ selanjutnya dikenai uap amonia, dan dilakukan pengamatan bercak di bawah sinar UV 254 dan 366 nm.

Uji aktivitas antiparkinson

Semua tikus diadaptasi di lingkungan laboratorium selama 1 minggu, dan dilatih berjalan di atas rotarod hingga mahir. Latihan dilakukan setiap hari selama setengah jam. Tikus yang sudah mahir berjalan di atas rotarod diuji kemampuan bertahannya di atas rotarod. Lama bertahan tikus di atas rotarod menjadi dasar lamanya waktu pengujian pada fase uji.

Tikus sebanyak 84 ekor dibagi menjadi 14 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok normal tanpa induksi haloperidol yang diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Kelompok 2 dan 3 merupakan kontrol negatif yang berturut-turut diberi akuades dan minyak zaitun 12,5 mL/kgBB. Dua kelompok kontrol positif yaitu kelompok 4 dan 5 berturut-turut diberi levodopa 27 mg/kgBB dan vitamin E 180 IU/kgBB. Kelompok 6 sampai 14 diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dengan dosis pada masing-masing bahan uji sebesar 150, 300, dan 600 mg/kgBB.

Semua hewan uji sesuai kelompoknya diberikan perlakuan 1 kali sehari selama 7 hari secara per oral. Empat puluh lima menit

kemudian diberikan haloperidol 2 mg/kgBB secara intraperitoneal kecuali tikus kelompok 1. Haloperidol diberikan dengan frekuensi satu kali sehari, selama 7 hari berturut-turut.¹⁷ Segera setelah pemberian haloperidol, tikus pada masing-masing kelompok diuji menggunakan alat rotarod selama waktu yang diperoleh pada fase latihan di hari ke 0, 4, 7, 11 dan 14, kemudian dilakukan pencatatan waktu bertahan tikus di atas rotarod tersebut. Prosedur pelaksanaan uji aktivitas antiparkinson ini mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Ardhianta dkk.¹⁷ dengan sedikit modifikasi. Penelitian yang dilakukan oleh Ardhianta dkk.¹⁷ menetapkan lamanya pengujian tikus di atas rotarod adalah 300 detik, sedangkan pada penelitian ini lamanya pengujian tikus di atas rotarod ditetapkan berdasarkan lamanya waktu bertahan tikus di atas rotarod selama fase latihan.

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antiparkinson adalah lama bertahan tikus di atas rotarod pada hari ke 0, 4, 7, 11, dan 14. Kurva dibuat dengan menghubungkan hari pengujian sebagai sumbu x dan lama tikus bertahan di atas rotarod sebagai sumbu y. Area di bawah kurva atau *area under curve* (AUC_{0-14}) dihitung dengan metode trapezoid. Rumus perhitungan AUC_{0-14} yaitu:

$$AUC_{0-14} = \frac{Kn_1 + Kn_2}{2} \times (t_2 - t_1)$$

Kn: lama bertahan tikus di atas rotarod pada hari ke n

t : hari pengujian ke-n

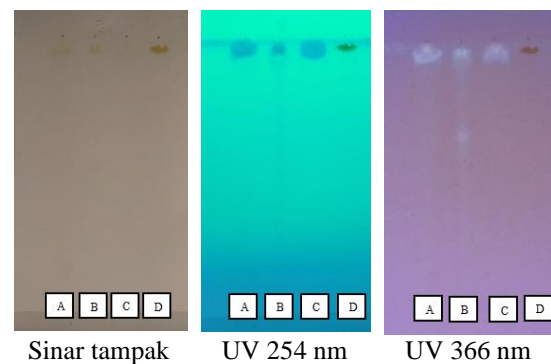
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif flavonoid

Konfirmasi keberadaan flavonoid dalam EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dengan KLT menunjukkan bahwa semua bahan uji tersebut mengandung flavonoid. Hal ini terlihat dengan munculnya warna kuning kecoklatan setelah plat silika gel 60 F₂₅₄ dikenai uap amonia. Paparan sinar UV 254 dan 366 nm membantu memperjelas

bercak yang terpisah dari EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK (Gambar 1).

Keberadaan flavonoid dalam EEBK juga ditemui pada penelitian lain. AISaid dkk¹⁸ dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa ekstrak etanol buah kemukus yang dibuat dengan metode perkolasi mengandung flavonoid.



Gambar 1. Hasil KLT setelah penguapan amonia (A) EEBK (B) FEAEEBK (C) FNHEEBK (D) kuersetin dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : air (10:2:3) pada sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm

Uji aktivitas antiparkinson

Penggunaan model hewan uji, yaitu tikus putih jantan galur Sprague Dawley mengacu pada penelitian yang dilakukan Ardhianta dkk.¹⁷ Pertimbangan lain pemilihan jenis kelamin galur tikus didasarkan pada kelaziman spesifikasi hewan uji yang digunakan untuk penelitian aktivitas antiparkinson yang diungkapkan oleh Waku dkk¹⁹ dan ketersediaannya.

Tikus dibuat mengalami gejala penyakit Parkinson dengan cara diinduksi dengan haloperidol secara intraperitoneal. Pemberian haloperidol menyebabkan penghambatan reseptor dopamin D₂, sehingga timbul gejala penyakit Parkinson. Gejala yang ditimbulkan berupa rigiditas otot dalam waktu 60 menit setelah pemberian haloperidol sebanyak 5 mg/kgBB secara injeksi intraperitoneal.²⁰

Tikus dengan kemampuan motorik yang baik dapat bertahan di atas rotarod lebih lama dibandingkan tikus yang dibuat mengalami penyakit Parkinson dengan pemberian haloperidol. Semakin baik kemampuan motorik tikus, maka waktu

bertahan tikus akan semakin lama. Data lama waktu bertahan tikus yang diperoleh dan hari pengukuran digunakan untuk menghitung AUC_{0-14} . Semakin baik kemampuan motorik tikus, maka waktu bertahan di atas rotarod makin lama dan nilai AUC_{0-14} -nya semakin besar. Secara teoritis, tikus yang diberikan senyawa yang dapat meningkatkan kemampuan motorik akan menghasilkan nilai AUC_{0-14} yang lebih besar dibandingkan tikus kontrol negatif.

Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol sehat yaitu tikus tidak diinduksi haloperidol dan diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Pemberian akuades secara per oral pada kelompok kontrol sehat dimaksudkan untuk menyamakan perlakuan kelompok kontrol sehat dengan kelompok yang lain. Terjadinya gejala penyakit Parkinson pada tikus dalam penelitian ini ditunjukkan dengan lebih kecilnya AUC_{0-14} secara bermakna pada kelompok tikus yang diinduksi haloperidol dan diberi akuades (kelompok 2) dan tikus kelompok kontrol sehat ($p < 0,05$) (Tabel 1).

Terdapat dua kelompok kontrol negatif dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi akuades dan minyak zaitun. Akuades merupakan pembawa pada suspensi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK. Bahan pembawa seharusnya tidak mempunyai efek farmakologi. Rata-rata AUC_{0-14} kelompok kontrol yang diberi akuades lebih kecil daripada rata-rata AUC_{0-14} kontrol positif yang diberi levodopa, dan terdapat perbedaan diantara keduanya ($p < 0,05$) (Tabel 1), sehingga dapat dinyatakan bahwa akuades sebagai pembawa ekstrak dan fraksi tidak punya aktivitas sebagai antiparkinson.

Minyak zaitun merupakan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan vitamin E. Minyak zaitun mengandung vitamin E.²¹ Pemastian tidak adanya kontribusi kandungan vitamin E pada minyak zaitun menjadi diperlukan. AUC_{0-14} tikus kelompok kontrol negatif yang diberi akuades lebih besar dibandingkan AUC_{0-14}

kelompok yang diberi minyak zaitun. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai AUC_{0-14} kedua kelompok tersebut ($p > 0,05$) (Tabel 1), sehingga dapat dinyatakan bahwa minyak zaitun sebagai pengencer tidak mempunyai aktivitas sebagai antiparkinson.

Rata-rata AUC_{0-14} pada kelompok yang diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK masing-masing dengan dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB berkisar antara 4.115,63 hingga 5.416,25 detik.hari. Rata-rata AUC_{0-14} terkecil merupakan AUC_{0-14} kelompok yang diberi FNHEEBK dosis 150 mg/kgBB, sedangkan rata-rata AUC_{0-14} terbesar adalah AUC_{0-14} kelompok FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB. Rata-rata AUC_{0-14} EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK pada berbagai dosis lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi akuades, namun tidak ada perbedaan antara AUC_{0-14} FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB dengan AUC_{0-14} kelompok kontrol negatif yang diberi akuades ($p > 0,05$). Ekstrak dan kedua fraksi mempunyai aktivitas antiparkinson, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB (Tabel 1). Lazimnya, peningkatan dosis senyawa akan meningkatkan pula aktivitas farmakologinya, namun kelaziman ini tidak terjadi pada FNHEEBK. Hal ini diduga terjadi karena variasi data AUC_{0-14} FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB besar, sehingga hasil analisis statistiknya tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol negatif yang diberi akuades.

Rata-rata AUC_{0-14} EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kgBB dari yang paling kecil hingga yang paling besar berturut-turut adalah EEBK, FNHEEBK, dan FEAEEBK. Terdapat perbedaan AUC_{0-14} pada ketiga kelompok tersebut ($p < 0,05$). Berdasarkan nilai rata-rata AUC_{0-14} , dapat dinyatakan bahwa aktivitas antiparkinson fraksi lebih besar dibandingkan EEBK (Tabel 1). Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa penyederhanaan komponen dalam EEBK melalui proses fraksinasi dapat

meningkatkan aktivitas antiparkinson. Perbandingan antar kedua jenis fraksi menunjukkan bahwa FEAEEBK lebih besar efektivitasnya sebagai antiparkinson dibandingkan FNHEEBK. Perbedaan aktivitas FEAEEBK dan FNHEEBK dapat dihubungkan dengan polaritas dan kandungan flavonoidnya. Polaritas flavonoid secara umum cenderung polar hingga semi polar. Fraksinasi menggunakan etil asetat menghasilkan fraksi dengan kandungan flavonoid lebih banyak dibandingkan fraksi yang diperoleh menggunakan n-heksan yang bersifat non polar. Diduga perbedaan kandungan flavonoid pada kedua fraksi membedakan besarnya aktivitas antiparkinson. Besarnya kandungan flavonoid pada FEAEEBK dan FNHEEBK perlu dipastikan melalui penelitian yang lain.

Penelitian ini menggunakan dua kelompok kontrol positif yaitu levodopa dan vitamin E. Levodopa merupakan senyawa yang mudah terdekarboksilasi menjadi dopamin oleh enzim *L-amino acid decarboxylase* pada saluran gastrointestinal. Dopamin adalah senyawa yang tidak bisa menembus sawar darah otak. Penambahan benserazid sebagai inhibitor dopa-dekarboksilase dapat meningkatkan bioavailabilitas levodopa di otak dengan mencegah dekarboksilasi levodopa di saluran gastrointestinal.²² Rata-rata nilai AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dosis 300 mg/kgBB lebih kecil secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi levodopa. Berdasarkan hasil analisis statistika tersebut dapat dinyatakan bahwa aktivitas antiparkinson EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK tidak sekuat levodopa (Tabel 1).

Vitamin E merupakan antioksidan yang digunakan sebagai terapi penunjang pada pengobatan penyakit Parkinson.²³ Vitamin E dipandang perlu digunakan sebagai kontrol positif karena pada penelitian ini kemampuan antiparkinson bahan uji didasarkan pada aktivitas antioksidannya. Rata-rata AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi

vitamin E lebih besar dibandingkan rata-rata AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK. Uji beda AUC₀₋₁₄ antara kelompok yang diberi perlakuan FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB dengan kelompok yang diberi vitamin E menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) (Tabel 1). Hasil analisis statistika tersebut menunjukkan bahwa FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB memiliki aktivitas antiparkinson yang setara dengan vitamin E. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi FEAEEBK adalah etil asetat yang bersifat semi polar, sehingga fraksi yang didapat juga bersifat semipolar. Organ yang menjadi target pada terapi Parkinson adalah otak, sehingga antiparkinson diharapkan dapat melewati sawar darah otak. Polaritas senyawa merupakan salah satu faktor yang menentukan kemampuan suatu senyawa dalam menembus sawar darah otak. Senyawa yang bersifat lipofil akan lebih mudah mencapai otak.²⁴ Fraksi yang lebih lipofil adalah FNHEEBK, namun ternyata aktivitas antiparkinson FNHEEBK tidak setara dengan vitamin E, kemungkinan karena sedikitnya kandungan flavonoid di dalamnya. Kesetaraan FEAEEBK dengan vitamin E diduga karena lipofilisitasnya yang cukup untuk menembus sawar darah otak serta kandungan flavonoidnya yang lebih besar dibandingkan FNHEEBK.

Adanya aktivitas antiparkinson EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kg dan kesetaraan aktivitasnya dengan vitamin E, namun tidak sekuat levodopa membuka peluang pengembangan ketiga bahan uji sebagai terapi penunjang pada penyakit Parkinson. Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan adalah pengujian aktivitas antiparkinson levodopa yang dikombinasikan dengan EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK.

Keberadaan flavonoid pada EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dapat dihubungkan dengan aktivitas antiparkinson. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang berperan terhadap aktivitas antioksidan.²⁵

Tabel 1. Rata-rata AUC₀₋₁₄ pada semua kelompok perlakuan

Perlakuan	Rata-rata AUC ₀₋₁₄ ± SE (hari.detik)
Kontrol sehat	6.720,00 ± 0,0 ^a
Kontrol negatif dengan akuades 12,5 mL/kgBB	3.674,50 ± 173,5
Kontrol negatif dengan minyak zaitun 1 mL/kgBB	3.483,63 ± 194,1 ^b
Kontrol positif levodopa 27 mg/kgBB	6.006,13 ± 163,0 ^a
Kontrol positif vitamin E 180 IU/kgBB	5.423,83 ± 44,8 ^a
EEBK 150 mg/kgBB	4.285,63 ± 71,5 ^a
EEBK 300 mg/kgBB	4.624,13 ± 100,7 ^{a,c,d}
EEBK 600 mg/kgBB	5.074,33 ± 64,0 ^a
FEAEEBK 150 mg/kgBB	5.162,50 ± 112,9 ^a
FEAEEBK 300 mg/kgBB	5.416,25 ± 32,5 ^{a,c}
FEAEEBK 600 mg/kgBB	5.194,00 ± 87,2 ^a
FNHEEBK 150 mg/kgBB	4.115,63 ± 209,5 ^b
FNHEEBK 300 mg/kgBB	4.985,75 ± 91,0 ^{a,c}
FNHEEBK 600 mg/kgBB	4.759,00 ± 408,4 ^b

- ^a : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif akuades
- ^b : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif akuades
- ^c : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif levodopa
- ^d : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan FEAEEBK dan FNHEEBK 300 mg/kgBB

Paparan radikal bebas menjadi salah satu faktor resiko rusaknya neuron dopaminergik yang mengakibatkan penurunan kadar dopamin dalam otak. Penurunan kadar dopamin menimbulkan berbagai gejala penyakit Parkinson.²⁶ Beberapa jenis senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan menjanjikan untuk dikembangkan sebagai terapi penyakit Parkinson.²⁷

KESIMPULAN

Flavonoid terkandung dalam EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK. Aktivitas

antiparkinson ditunjukkan dalam EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB. Berdasarkan rata-rata AUC₀₋₁₄, perbandingan aktivitas antiparkinson EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kgBB menunjukkan bahwa FEAEEBK mempunyai aktivitas antiparkinson yang paling besar. Aktivitas antiparkinson EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK tidak sekuat levodopa. FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB mempunyai aktivitas antiparkinson yang setara dengan vitamin E.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian kadar flavonoid total pada EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK sekaligus penentuan aktivitas antioksidan untuk mengetahui korelasi dengan aktivitas antiparkinsonnya. Lanjutan penelitian ini disarankan pengujian aktivitas antiparkinson levodopa yang dikombinasikan dengan EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK. Selain itu, dapat pula dilakukan pada FEAEEBK yang difokuskan pada aktivitasnya dalam menangani gejala penyakit Parkinson non motorik, misalnya sebagai peningkat daya ingat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dana dari DIPA Universitas Wahid Hasyim.

DAFTAR RUJUKAN

1. Lee TK, Yankee EL. A review on Parkinson's disease treatment. *Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2021;8.
2. Moon HE, Paek SH. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol*. 2015 Jun 30;24(2):103–16. doi: 10.5607/en.2015.24.2.103
3. Picca A, Calvani R, Coelho-Júnior HJ, Landi F, Bernabei R, Marzetti E. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and neuroinflammation: Intertwined roads to neurodegeneration. *Antioxidants*.

- 2020;9(8):1–21.
doi: 10.3390/antiox9080647
4. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018 Apr;13:757–72. doi: 10.2147/CIA.S158513
 5. Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: new mechanistic insights and therapeutic perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2018;18(5). doi: 10.1007/s11910-018-0829-3.
 6. Iarkov A, Barreto GE, Grizzell JA, Echeverria V. Strategies for the treatment of Parkinson's disease: beyond dopamine. *Front Aging Neurosci*. 2020;12(January):1–20. doi: 10.3389/fnagi.2020.00004
 7. Jellinger KA. Parkinson's disease. *Pathobiology of human disease: a dynamic encyclopedia of disease mechanisms*. Elsevier Inc.;2014.2021–35p.
 8. Church FC. Treatment options for motor and non-motor symptoms of parkinson's disease. *Biomolecules*. 2021;11(4). doi: 10.3390/biom11040612
 9. DeMaagd G, Philip A. Parkinson's disease and its management: part 1: disease entity, risk factors, pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis. *P T*. 2015 Aug;40(8):504–32.
 10. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(6):548–60. doi: 10.1001/jama.2019.22360.
 11. Gandhi KR, Saadabadi A. Levodopa (L-Dopa). *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021.
 12. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 2014;23(4):239–44.
 13. Jung UJ, Kim SR. Beneficial effects of flavonoids against Parkinson's disease. *J Med Food*. 2018;21(5):421–32.
 14. Makmun MT al, Widodo SE, Sunarto. Construing traditional javanese herbal medicine of headache: transliterating, translating, and interpreting serat primbon jampi Jawi. *Procedia - Soc Behav Sci*. 2014;134:238–45.
 15. Nahak G, Sahu RK. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Piper cubeba* and *Piper nigrum*. *J Appl Pharm Sci*. 2011;1(8):153–7.
 16. Khalaf NA, Shakya AK, Al-Othman A, El-Agbar Z, Farah H. Antioxidant activity of some common plants. *Turkish J Biol*. 2008;32(1):51–5.
 17. Ardhianta IR, Peranginangin JM, Handayani R. Antiparkinson activity of rosella extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) in white male (*Rattus norvegicus*) sprague dawley rats induced by haloperidol. *J Farm Indones*. 2017;14(2):160–8.
 18. AlSaid M, Mothana R, Raish M, Al-Sohaibani M, Al-Yahya M, Ahmad A, et al. Evaluation of the effectiveness of *Piper cubeba* extract in the amelioration of CCl₄-induced liver injuries and oxidative damage in the rodent model. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1–11.
 19. Waku I, Magalhães MS, Alves CO, de Oliveira AR. Haloperidol-induced catalepsy as an animal model for parkinsonism: a systematic review of experimental studies. *Eur J Neurosci*. 2021;53(11):3743–67.
 20. Duty S, Jenner P. Animal models of Parkinson's disease: A source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1357–91.
 21. Khedir S Ben. Effects of minor components of olive oil on health. *J Complement Med Altern Healthc*. 2018;5(2):6–10.
 22. Nord M. Levodopa pharmacokinetics - from stomach to brain: a study on patients with Parkinson's disease. 2017;1–79 p.
 23. Schirinzi T, Martella G, Imbriani P, Di Lazzaro G, Franco D, Colona VL, et al. Dietary vitamin E as a protective factor for Parkinson's disease: clinical and experimental evidence. *Front Neurol*. 2019;10(February):1–7.
 24. Bellettato CM, Scarpa M. Possible strategies to cross the blood–brain barrier. *Ital J Pediatr*. 2018;44(S2).
 25. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 2000;63(7):1035–42.
 26. Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Mireles-Ramírez MA, Flores-Alvarado LJ, González-Usigli H, Sánchez-López AL, et al. Oxidative stress and Parkinson's disease: effects on environmental toxicology. *Free Radicals Dis*. 2016;
 27. Filograna R, Beltramini M, Bubacco L, Bisaglia M. Anti-oxidants in Parkinson's disease therapy: a critical point of view.

Curr Neuropharmacol. 2016;14(3):260–71.